التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لبذور الحرمل في نمو بعض أنواع البكتريا المرضية

عبد الجبار عبد الحميد الخزرجي[1] گلبوي عبد المجيد[2] أمير خضير عباس[1] سهيلة غفوري[1] مؤيد عبد الصاحب تويج[1]
رئيس باحثين مدرس مساعد باحث باحث رئيس باحثين
[1] وزارة العلوم والتكنولوجيا [2] كلية الزراعة – جامعة بغداد
alansari522000@yahoo.com gulboyalnasiry@yahoo.com

المستخلص

اختبرت الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة (25-500 ملغم/ مل) للمستخلص المائي لبذور الحرمل *peganum harmala* L في تثبيط نمو بعض أجناس البكتيريا المرضية السالبة لصبغة گرام والتي شملت *Pseudomonas aeruginosa*، *Salmonella spp.* و*E.coli* والموجبة لصبغة گرام *Staphylococcus aureus* و*Bacillus spp.* عن طريق قياس قطر المنطقة الشفافة الناتجة من التثبيط، وقد أظهرت النتائج ارتفاع الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لبذور الحرمل بتراكيزه المختلفة تجاه البكتريا الموجبة لصبغة گرام مقارنة بالسالبة لصبغة گرام، اذ كان قطر المنطقة الشفافة عند التركيز 25 ملغم/مل تجاه أجناس البكتريا الموجبة *Bacillus spp.* و *Staphylococcus aureus* هي 12 و14 ملم على التوالي مقارنة بالسالبة لصبغة گرام *Salmonella spp.* ، *Pseudomonas aeruginosa* و*E.coli* والتي كانت 7، Nil و 6 ملم على التوالي، واستمر الاتجاه نفسه عند التركيز 50 ملم/مل اذ سجلت أقطار المنطقة الشفافة 15 و18 ملم لأجناس البكتريا الموجبة *Bacillus spp.* و *Staphylococcus aureus* مقارنة بـ 9، Nil و10 ملم لأجناس البكتريا السالبة وحسب تسلسلها السابق، وازداد قطر المنطقة الشفافة مع ازدياد تركيز المستخلص المائي لبذور الحرمل ولكافة أجناس البكتريا المستخدمة في الدراسة الحالية حتى التركيز 300 ملغم/مل الذي استقر عنده قطر المنطقة الشفافة على 13 ملم بالنسبة لنوع البكتريا السالبة *E.coli* و27 ملم لنوع البكتريا الموجبة *Staphylococcus aureus*، وكان قطر المنطقة الشفافة للبكتريا السالبة *Salmonella spp.* هو 15 ملم عند التركيز 350 ملغم/مل واستقر لكافة التراكيز اللاحقة ،بينما ارتفع قطر المنطقة الشفافة الى 20 ملم عند نفس التركيز(350ملغم/مل) بالنسبة لبكتريا *Bacillus spp.* الموجبة الصبغة واستقر عند نفس القطر للتراكيز اللاحقة ولحد 500 ملغم/مل، وعند التركيز 400 ملغم/مل كان قطر المنطقة الشفافة هو 22 ملم لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* السالبة الصبغة واستقر على نفس القطر للتراكيز اللاحقة ولحد 500 ملغم/مل.

الكلمات المفتاحية: الحرمل، الفعالية التثبيطية للحرمل، مستخلص الحرمل والبكتريا.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 44(2): 234-240, 2013 Al-Khazraji et al.

THE INHIBITION ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF *PEGANUM HARMALA* SEEDS IN GROWTH OF SOME PATHOGENIC BACTERIA

Abdul Jabbar A. Al-Khazraji[1] Gulboy A. Nasir[2] Amir K.Abbas[1] Suhaila Ghafory[1] Moayed A. Touej[1]
Research Chief Assistant Instructor Research Research Research Chief
[1] Ministry of Science and Technology [2] College of Agriculture, University of Baghdad
gulboyalnasiry@yahoo.com alansari522000@yahoo.com

ABSTRACT

An experiment was conducted to evaluate the inhibition activity of different concentrations of aqueous extract of *Peganum harmala* L seeds extract (25-500 mg/ml) in growth of some pathogenic G-bacteria species (e.g. *E.coli, Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella spp.*) and G+ species (e.g. *Staphylococcus aureus* and *Bacillus spp.*). Activity of Peganum harmala seed aqueous extract in bacterial inhibition was tested by well-diffusion agar with piercing cork (8mm diameter).Result revealed, that different concentrations of aqueous *peganum harmala* L seeds extract was exhibited high inhibition activity in growth of G+ bacteria species in the comparison of G- bacteria. The inhibition zone diameter at 25mg/ml conc. of aqueous seed extract was 14 and 12 mm for G+ *Bacillus spp.*and *Staphylococcus aureus* respectively in the comparison with G- species (*E.coli, Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella spp.*) which was 7,Nil and 6 mm respectively, similar trend to that of 50 mg/ml conc. was found, inhibition zone was 15 and 18 mm for *Bacillus spp.* and *Staphylococcus aureus* respectively, whereas it was 9,Nil and 10 mm for *E.coli, Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella spp*. respectively. Inhibition zones were extrusive proportioning with increasing of concentration it was elevated positively with the extract concentration increasing for all species of pathogenic bacteria species which used in this study. The maximum inhibition zone diameters was 13 mm and 27mm for *E.coli* and *Staphylococcus aureus* at 300 mg/ml conc., it was 15 and 20 mm for *Salmonella spp*. and *Bacillus spp.* respectively at 350 mg/ml conc., of aqueous *pegnum harmala* L seeds extract, last but not least the maximum inhibition zone diameter was 22mm for *Pseudomonas aeruginosa* at 400 mg/ml concentration.

Key Words: Peganum harmala-L, aqueous extract, antibacterial activity.

المقدمة

الاسم العلمي لنبات الحرمل هو *Peganum harmala* L، وهو نبات عشبي معمر ينتمي الى العائلة القديسية *Zygophylaceae* ويعد من الاعشاب الطبية التي تستخدم في العلاج الشعبي (14 و16)، ينمو في البيئات الجافة والبوادي والسهول والمناطق المعتدلة الحرارة والدافئة وفي الاراضي الجبلية. لقد استخدم الحرمل في علاج العديد من الحالات المرضية، فقد استخدم في علاج حالات الاكتئاب في اليمن، إذ وجد أن الهارمالين وهو احد القلويدات الفعالة في الحرمل يعتبر محفزاً للجهاز العصبي المركزي (18)، كما استخدمت بذور الحرمل في معالجة سرطان الجلد في المغرب، إذ أظهرت مستخلصات البذور فعالية كبيرة ضد مختلف الأورام الخبيثة سواء كانت in vivo أو in vitro (16). للحرمل خواص مضادة للأكسدة (antioxidant) ومضادة للتطفير (antimutagenic) (21)، وتشير الأبحاث الى ان الإغريق القدماء كانوا يستخدمون مسحوق بذور الحرمل للتخلص من الدودة الشريطية، معالجة الحمى الراجعة (نتيجة تأثير الملاريا) (23)، كما ان استخدام الحرمل اظهر تأثيرات حافظة للحياة (life saving) للمواشي المصابة بحمى الساحل الشرقي (East Coast Fever) التي يمكن ان تكون قاتلة ومميتة 100% لحوالي 1.1 مليون من الماشية في أفريقيا لعام 1992 (8). كما وجد Hamden واخرون (11) ان لمستخلصات الحرمل فعالية في تقليل السمية المستحثة بواسطة الثايو يوريا في ذكور الجرذان، ويمكن ان يقلل مسحوق الحرمل من عملية تكوين النطف وخصوبة ذكور الجرذان(11)، كما اظهرت نتائج العمل المختبري تفوق زيت بذور الحرمل بتركيز 2% في احداث اعلى نسبة قتل للحشرة القشرية البيضاء التي تصيب النخيل (4)، كما وجد Al-asadi (3) ان المستخلصان المائي والكحولي لنبات الحرمل اظهر فعالية تثبيطية ضد الفطر M.scaettae المسبب مرض خياس طلع النخيل. ان التطور السريع لمقاومة البكتريا للمضادات الحيوية التقليدية وتغير طبيعة الإصابات المعتادة من المشاكل الكبيرة والمعقدة في الوقت الحالي، لذلك كان لابد من استحداث مواد وطرق جديدة لمواجهة هذه التحديات، فكان استخدام المستخلصات النباتية واحدا من هذه الحلول اذ استخدمت المستخلصات النباتية في تثبيط نمو العديد من انواع الاحياء المجهرية الممرضة لما تحويه من مواد كيميائية مؤثرة في نمو هذه الأحياء ومنها مستخلصات الحرمل الذي تعود فعاليته التثبيطية لما يحويه من مركبات كيميائية تشمل على أنواع مختلفة من أشباه الفلافونيدات (flavoinids)، الكلايكوسيدات (glycosides) والتانين (Tannins). كما يحتوي على اربع قلويدات مهمة هي الهارمين (Harmine)، الهارمان (Harmane)، الهارمالين (Harmaline) والهارمالول (Harmalole) التي تكون على الاقل 5.9 % من الوزن الجاف للبذور (13). ذكر Pulpati واخرون (24) ان الحرمل يتكون من Harmine و Hramaline و Peganine (Vasicine) و Vasicinone، فقد ذكر Edziri واخرون (9) ان مستخلصات الجزء الهوائي (أوراق وأزهار) الحرمل تحتوي على كمية كبيرة من poly phenol الذي يعرف عنه فعاليته الكبيرة المضادة للبكتريا، وذكرِ Arshad واخرون (7) ان للحرمل فعالية ضد البكتريا المقاومة للأدوية. كما ذكر Mirsa واخرون (20) ان احد المركبات الموجودة في الحرمل وهو peganine آمن وفعال ضد طفيلي الليشمانيا *Lieshmania donovani*. كما اشار Lala واخرون (15) الى ان المركب لقلوي Harmine له فعالية في تدمير طفيليات intracellular، اذ يستخدم بشكله المتحوصل (vesicular forms) في التطبيقات الطبية في الانسان. كما اكد Al-Izzy (5) ان مستخلص الحرمل كان فعالاً في تثبيط نمو *Candida* و*Lactobacilli* المعزولتين من لعاب الانسان. كما ان مركب الهارمالين (Harmaline) وهو قلويد مهم في نبات الحرمل اظهر نتائج ايجابية في تثبيط النمو البكتيري (25) وبخاصة البكتريا الموجبة لصبغة غرام (1، 25، 27). وأكدت البحوث ان مستخلص الحرمل بالكلوروفورم له فعالية تثبيطية للبكتريا الموجبة لصبغة غرام اعلى من فعاليته التثبيطية للبكتريا السالبة لصبغة غرام (9، 12). وان مستخلص الحرمل بالميثانول اظهر نفس التأثير على فعالية البكتريا الموجبة (12)، وفعالية مضادة للفيروسات (9) ومستخلصه بالبيوتانول له فعالية مضادة للأكسدة (9).

المواد والطرائق

العزلات البكتيرية

استخدمت العزلات البكتيرية (*Escherichia coli(E.*، Pseudomonas aeruginosa (Ps.)، *Staphylococcus aureus (S.)*، *Salmonella spp (sal.)*، *Bacillus spp(Bac.)* التي شخصت في مختبرات مركز بحوث الغذاء/وزارة العلوم والتكنولوجيا من مصادر غذائية واعتمدت رسميا من قبل مختبر الصحة المركزي. زرعت العزلات البكتيرية على سطح الآكار المغذي المائل وحضنت بدرجة 37°C مدة 24 ساعة ،وحفظت بعدها بدرجة 4°C لحين الاستخدام.

تحضير المستخلصات المائية

اعتمدت طريقة Abas(2) و Anesini&Perez (6) في تحضير المستخلصات المائية لنبات الحرمل، إذ اخذ 15 غم من مسحوق المادة الجافة للنبات ووضع في دورق خاص سعة 500 مل وأضيف إليه 100 مل من الماء المقطر المعقم، وترك الدورق في الحاضنة الهزازة مدة 24 ساعة بدرجة 37°C، ثم رشح المستخلص اولا باستخدام قمع بخنر يحوي على قطعة من الشاش الطبي لإزالة الشوائب وثانياً باستخدام اوراق ترشيح Wattman No.1 ، نبذ الراشح في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2500 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة بعدها اخذ الراشح ووضع في الحاضنة بدرجة C ° 37 مدة 48-72 ساعة للحصول على المسحوق الجاف ووضع في الثلاجة بدرجة 4°C لحين الاستخدام وقد تم التأكد من عدم تلوث المستخلص النباتي وحسب ما مذكور في الفقرة 3 ادناه.

اختبار فعالية المستخلص النباتي في نمو البكتريا

اجري هذا الاختبار بطريقة الانتشار في الحفر Well-diffusion agar باستخدام ثاقب الفلين بقطر 8 ملم، وتمتاز هذه الطريقة بكفاءتها وسهولة اجراءها مقارنة بطريقة أوراق الترشيح (17).

تحضير تراكيز المستخلص المائي

حضر محلول الخزين Stock solution من المستخلص النباتي بإذابة 5 غم من اصل 30 غم من المسحوق النباتي المجفف في 10 مل من الماء المقطر للحصول على تركيز 500 ملغم/مل ثم رشح المحلول الخزين لغرض التعقيم بمرشحات Wattman membrane filter 0.22 مايكرو متر بعدها حضرت التراكيز التالية :(25، 50، 100، 150، 200، 250، 300، 350، 400، 450، 500) ملغم/مل بمزج حجم معين من المحلول الخزين مع الماء المقطر المعقم وحسب المعادلة $C_1V_1=C_2V_2$ حيث يمثل C_1V_1 حجم وتركيز المحلول الخزين وC_2V_2 يمثل حجم وتركيز المحلول المراد تحضيره.

تحضير العالق البكتيري

حضر العالق البكتيري بأخذ عدد من المستعمرات البكتيرية بوساطة إبرة التلقيح (Loop) ووضعها في أنابيب حاوية على الوسط المغذي السائل لغرض تنشيط ونمو البكتريا، ثم حضنت الأنابيب مدة 18 ساعة وبدرجة حرارة 37 °م وقورن العالق البكتيري مع محلول مكفرلاند القياسي الذي يعتمد على درجة تعكر العالق البكتيري وذلك بحساب عدد البكتريا لكل 1 مل من العالق حيث يكون العدد البكتيري مقارباً الى $1.5x10^8$ خلية / مل.

إجراء الاختبار التثبيطي لنمو البكتريا

تم التأكد من عدم تلوث المستخلص النباتي وذلك بزرع 0.1 مل من المستخلص على الوسط المغذي الصلب وحضنه مدة 24 ساعة بدرجة 37°C. نشر 0.1 مل من العالق البكتيري على الأطباق الحاوية على وسط (Miller Hinton) بوساطة المسحة المعقمة Sterile swab على سطح الطبق بعدة اتجاهات وبشكل متجانس ويترك مدة قصيرة بعدها عملت حفر بقطر 8 ملم في الوسط المزروع بالثاقب الفليني واستخدمت التراكيز المحضرة من التركيز الاصلي للمستخلص المائي المحضرة سابقاً بالماء المقطر المعقم. واضيف مقدار 0.1 مل من كل تركيز لكل حفرة مع ابقاء واحدة من الحفر كمعاملة سيطرة بإضافة الماء المقطر المعقم. حضنت الاطباق بدرجة 37°C مدة 24 ساعة. حددت فعالية كل تركيز من المستخلص بقياس منطقة التثبيط Inhibition zone حول كل حفرة (17).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج المعاملة بالتراكيز المختلفة للمستخلص المائي لبذور الحرمل تبايناً في تثبيط نمو الانواع البكتيرية المختلفة والمستخدمة في التجربة (جدول 1)، اذ كان التأثير التثبيطي للمستخلص في نمو البكتريا السالبة لصبغة غرام (*Salmonella spp. , E.Coli, Pseudomonas*

(*aeruginosa*) اقل نسبياً مقارنة بالبكتريا الموجبة لصبغة غرام (*Staphylococcus aureus, Bacillus spp.*) في التراكيز الواطئة. وهذا يتفق مع ما وجده Edziri واخرون (9) وHayet واخرون (12) لمستخلصات الحرمل بالكلوروفورم والميثانول. فقد بلغ قطر المنطقة الشفافة الناتجة من تثبيط بكتريا *E. coli* عند التركيز 25 ملغم/مل من المستخلص المائي لبذور الحرمل هو 7 ملم كما في الشكل (1)، واعلى تثبيط تم الحصول عليه عند التركيز 300 ملغم/مل اذ بلغ قطر المنطقة الشفافة 13 ملم. اما بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد اظهرت مقاومتها للتركيزين 25، 50 ملغم/مل، في حين بلغ قطر المنطقة الشفافة عند التركيز 100 ملغم/مل 18 ملم كما في الشكل (3) وازداد بزيادة التركيز حتى بلغ مقدار التثبيط 22 ملم بتركيز 400 ملغم/مل. بينما اظهرت بكتريا *Salmonella spp.* حساسيتها للمستخلص المائي لنبات لحرمل بتركيز 25 ملغم/مل، اذ بلغ قطر المنطقة الشفافة 6 ملم كما في الشكل (4) وازداد القطر بزيادة التركيز ليصل اعلى مستوى له (15 ملم) بتركيز 350 ملغم/مل.

جدول 1 . الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لنبات الحرمل على بعض الأنواع البكتريا المختبرة

التركيز ملغم/مل	قطر منطقة التثبيط (ملم)				
	E.	*Ps.*	*Sal.*	*S.*	*Bac.*
25	7	No inhibit	6	12	14
50	9	No inhibit	10	18	15
100	12	18	13	22	17
150	12	18	13	23	18
200	12	19	14	24	18
250	12	19	14	26	19
300	13	19	14	27	19
350	13	21	15	27	20
400	13	22	15	27	20
450	13	22	15	27	20
500	13	22	15	27	20

شكل 1. بكتريا *E.Coli* عند التركيز25 ملغم/مل من المستخلص المائي للحرمل

شكل2. بكتريا *E.coli* عند التركيز100 ملغم/مل من مستخلص الحرمل

شكل 3. بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عند التركيز 100ملغم/مل من المستخلص

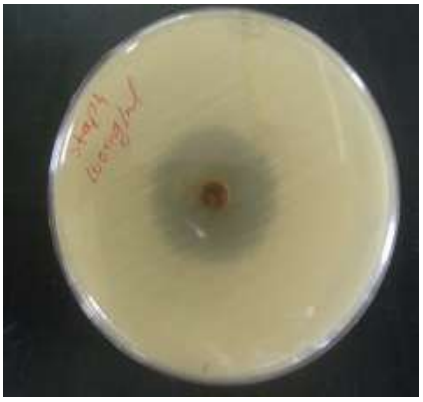
شكل 4. بكتريا *Salmonella spp* عند التركيز25 ملغم/مل من المستخلص

شكل 5. بكتريا *Salmonella spp.* عند التركيز 100 ملغم/مل

أما بالنسبة للبكتريا الموجبة لصبغة غرام والمتمثلة ببكتريا *Bacillus spp.* و *S. aureus* فقد اظهر المستخلص المائي لنبات الحرمل فعالية تثبيطية أعلى تجاه هذه البكتريا في التراكيز الواطئة (25 ملغم/مل)،وازداد قطر المنطقة الشفافة بزيادة التركيز اذ بلغ قطر المنطقة الشفافة 12 و14 ملم عند التركيز 25 ملغم/مل بالنسبة لبكتريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus spp.* على التوالي، وأعلى تثبيط تم الحصول عليه لبكتريا *Staphylococcus aureus* عند التركيز 300 ملغم/مل إذ بلغ قطر المنطقة الشفافة 27 ملم، في حين بلغ أعلى تثبيط وهو 20 ملم بالنسبة لبكتريا *Bacillus spp.* عند التركيز 350 ملغم/مل. من النتائج المستحصل عليها لوحظ ان المستخلص المائي لبذور الحرمل له فعالية تثبيطية على كافة أنواع البكتريا قيد الدراسة، فقد أشار Muhammad و Muhammad (22) الى ان القاعدة العامة تؤكد ان المستخلص يعتبر فعالا تجاه كل من البكتريا او الفطريات اذا كان قطر المنطقة الشفافة يزيد على 6 ملم ،كما أشارت النتائج الى ان المستخلص المائي للحرمل كان أكثر تثبيطا للبكتريا الموجبة لصبغة كرام مقارنة بالسالبة لصبغة كرام، ان تحسس البكتريا الموجبة لصبغة كرام (+G) للتراكيز المختلفة لبذور الحرمل يعود الى الاختلاف في طبيعة تركيب الجدار الخلوي لها إذ تحتوي على طبقة خارجية من الببتيدوكلايكان والذي تكون نفاذيته للمواد أكثر من جدار البكتريا السالبة لصبغة غرام(– G) (21). كما أوضح Tegos وآخرون (31) بان البكتريا السالبة لصبغة كرام تمتلك مضخات متعددة مقاومة للعقار Multi Drug Resistance pumps (MDR) تقوم بقذف السموم Amphipathic Toxins خلال الغلاف الخارجي، ومن خلال فحوصات المجهر الالكتروني والقياس بالطريقة اللونية الدقيقة، وجد Takaisi-Klkuni و Schilcher (30) بان مستخلص العكبر (propolis) بالايثانول يتداخل مع الانقسامات الخلوية لبكتريا *Streptococcus* من خلال تكوين عدة خلايا كاذبة او تشويش السايتوبلازم او تثبيط تصنيع البروتين الذي تقود الى تحلل البكتريا، كما اكد (19) بان مستخلص العكبر وبعض المكونات الفينولية تؤثر على حالة الطاقة الحيوية لغشاء الخلية بتثبيط امكانياته مما يقود الى زيادة نفاذيته للأيونات وتعويق البكتريا. فاحتمال ان تكون مثل تلك الميكانيكيات هي السبب وراء تثبيط نمو أجناس البكتريا قيد الدراسة بالمستخلص المائي لبذور الحرمل. لوحظ ان تأثير المستخلص المائي لبذور الحرمل في أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام كان متباينا اذ كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي الأكثر تأثرا تليها بكتريا *Salmonella spp.* ثم ألـ *E. coli* أما بالنسبة للبكتريا الموجبة لصبغة كرام فقد كانت بكتريا *Staphylococcus aureus* أكثر تأثرا من بكتريا *Bacillus spp.* بالفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لبذور الحرمل. ان المنطقة الشفافة للتثبيط ازدادت مع زيادة تراكيز المستخلص، وهذا ربما يعود الى زيادة مستويات القلويدات الأساسية التي لها القابلية على ان تقحم نفسها مع DNA الاحياء المجهرية مؤدية إلى قتلها (5).كما أشارت الدراسات بان مشتقات ألبيتا كاربولين تثبط أنزيمات DNA-isomerases وتدخل في تصنيع الـ DNA إذ تتداخل هذه المشتقات مع الـ DNA عبر كل من الارتباط بالأخدود (groove binding) والأنماط الاقتحامية (intercalative modes) مسببة تغييرات هيكلية رئيسية في الـ DNA (29).

شكل 6. بكتريا *Bacillus spp.* عند التركيز 100 ملغم/مل من المستخلص

شكل 7. بكتريا *S. aureus* عند التركيز 25 ملغم/مل من المستخلص



شكل 8. بكتريا *S. aureus* عند التركيز 100 ملغم/مل

REFERENCES

1. Aassila,A.; B.ML.Kondraki,; S. Rifai,.; A. Fassouane, and M.Guyot**.2003.** Identification of human as the antibiotic compound produced by tunicate –associated bacterium. Biotechnol. (NY). 5(2):163-166.

2. Abas,Z.R. 2008. Effect of aqueous and alcoholic extracts of *Thuja orientolis L* and *Plantago lanceolata L*. in inhibition of some bacteria caused skin wounds Inflammation. Msc.Thesis.College of Science, University of Al- Mustanseriya (InArabic)

3. AL-Asadi, Ramiz Mahdi Salih . 2008. effect of arak and harmal plant extracts on growth inhibition of *Mauginiella scaettae* Cav.in laboratory. Date palm Research Center , J.of Basrah.7(1):31-39.(In Arabic).

4. Al-Dosari,N.H;Alnajim,E.A.;Al-Mansour,N. A.A and Muhsen,H. 2008. Evaluate the efficiency of some vegetable oils against insect cortical white on palms. . Date palm Research Center , J.of Basrah.7(1):47-60.(In Arabic)

5.AL-Izzy,M.Y.2010.Antimicrobial effect of aqueous and alcoholic extract of *Peganum harmala L*. seeds on two types of salivary isolated microorganisms in Al-Ramadi city. J. of King Abdulaziz University-Medical Sciences. JKAU: Med. Sci., 17(4): 3-17

6.Anesini,C.andC. Perez. 1993. Screening of plant used in Agrentine folk medicine for antimicrobial activity.39(2):119-128.

7.Arshad,N.; ,K. Zitterl-Eglseer.; S. Hasnain, and M .Hess. 2008. Effect of *Peganum harmala* or its beta carboline alkaloidson certain antibiotic resistant strains of bacteria and protozoa from poultry. Phytother Res. 22 (11) ;1533-1538.

8. Derakhshanfar,A., and M. Mirzaei. 2008. Effect of *Peganum harmala* (wild rue) extract on experimental ovine malignant. theileriosis pathological and parasitological findings. On destepoortJ.Vet.Res.75(1):67-72.

9.Edziri,H.;M.Mastouri;M.A.Mahjoub;G .Patri ch;M .Matieu; S Ammar; S.Ali, M; Laurent,G.; Zine and M .Aouni. 2010. Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala L*. grown in Tunisia. Toxicological & Environmental chemistry, 92 (7):1283-1292.

10. El-Dwairi, Q. A.; S. M. Banihani. 2007. Histo-functional effects of *Peganum harmala* on male rat's spermatogenesis and fertility. Neuro Endo- -crinology Lett.28(3) :305-310.

11. Hamden,K.; H.Masmoudi; F. Ellouz ; A. Elfeki and S.Carreau. 2008. Protective effects of *Peganum harmala* extracts on thiourea-induced diseases in adult male rat.J.of Environmental Biology. 29(1):73-77.

12. Hayet,E.; M.Maha; M. Mata; Z. Mighri; G.Laurent and A. Mahjoub. 2010. Biological activities of *Peganum harmala* leaves. African J. of Biotechnology. 9(48):8199-8205.

13.Hemateenejad,B. ; A. Abbaspour ; H. Maghami; R. Miri, and M. R. Panjehshahin. 2006**.** Partial least squares- based multivariate spectral calibration method for simultaneous determination of beta- carboline derivatives in

Peganum harmala seeds extracts . Analytica Chimica Acta. 575(2):290-299.

14. Kuhu, M.A .and D**.**Winston 2000**.** Herbal therapy and supplements, a scientific and traditional approach. New York: Lippincott p.350-374.

15. Lala,S.;S.Pramanick;S.Mukhopa-dhya; S. Bandyopadhyay and M.K. Basu. 2004. Harmine evaluation of its antileishmanial properties in various vesicular delivery system. J. of Drug Targeting.12(3):165-75.

16. Lamchouri, F.; A Settef; Y. Cherrah; M.Zemzami; B.Lvoussi; A.Zaid; N. Atif, and M**.**Hassar. 1999**.** Antitumor principles from *Peganum harmala* seeds.Therapie. 54(6): 753-758.

17. Mahmood, M. J.; A.Y.Jawad; A.M. Hussien; M. Al-omari, and A. Al- Naib. 1989. Invitro antimicrobial activity of *Salsola rosanarinus* and *Adiantum capillus veneris.* Int. J. Cmde Drug Res. 27:14-16.

18. Massaro, E. J. 2002**.** Handbook of Neurotoxicology. Human Press. 2:237.ISBN.

19. Mirzoeva OK ; RN .Grishanin, PC. Calder. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol Res, 152:239-246.

20. Misra,P.; Khaliq,T. and A.Dixit. 2008. Antileishmanial activity mediated by apoptosis and structure- based target study of peganine hydrochloride dehydrate: An approach for rational drug design. J. Antimicrob. chemother. 62(5): 998-1002.ZA

21. Moura,DJ.; M. F. Richter; JM.Boeira,; J. A. Pêgas Henriques, and J. Saffi. 2007. Antioxidant properties of beta-carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. Mutagenesis. 22(4): 294-302.

22. Muhammad H;S. Muhammad. 2005. The used of *Lawsonia inermis* Linn. (Henna) in the management of burn wound infections. Afr. J Biotechnol. 4(9): 934-937.

23. Nikaido,H. and M. Vaara. 1995. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiol. Rev.49:31-32.

24. Panda,H. 2000. Herbs cultivation and medicinal uses. Delhi National Institute of Industrial Research. pp:435.ISBN.

25. Pulpati, H.; Y. S. Biradar and M. Raiani. 2008. High performance thin - layer chromatography densitometric method for the gantification of harmine, harmaline, vasicine and vasicinone in *Peganume harmala*.J. AOAC. Int. 91(5): 1179-1185.

26. Saify, Z. S. ; J. Farhad ; N. Mushtaq; F. Noor.; S. Akhtar ; M. Arif ; B. S. Naqvi, and M. Shoaib. 2005. Antibacteril activity of 1-methyl-7-methoxy-β-carboline and its phenacyl and coumarine analogues. Pakistan J. of Pharmaceutical Sciences.18 (3): 39-41.

27. Scherrer,D., and D. P .Gerhar. 1971. Molecular sieving by the *Bacillus megatrium* cell wall and protoplast. J.Bacteriol.107:718-735.

28. Schupp, P. ; T. Poehner ; R. Edrada; R.Ebel; A. Berg ; V. Wray, and P. Proksch. 2003. Eudistomins W and X, two new beta-carbolines from the Micronesian tunicate udistoma sp .J. Nat. Prod. 66(2): 272-275.

29. Shohreh Nafisi , Mahyar Bonsaii , Pegah Maali, Mohammad Ali Khalilzadeh and Firouzeh Manouchehri. 2010. b-Carboline alkaloids bind DNA. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 100:84–91(journalhomepage: www.elsevier.com/locate/jphotobiol).
(From virtual library).

30. Takalsi-Kikuni,NB; H .Schilcher.1994. Electron microscopic and Microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Med, 60:222-227.

31. Tegos, G. ; F. R. Stermitz; O. Lomovskaya, and K. Lewis. 2002. Multidrug pump Inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. Antimicrobial Agents Chemother.46:3133-3141.